

15. Loeber J. G., *Neonatal screening in Europe; the situation in 2004*. J Inherit Metab Dis, 2007.
16. Pavlovic S., Stojiljkovic M., *Molecular diagnosis of phenylketonuria: from defective protein to disease-causing gene mutation*, 2009.
17. Popescu T., Blazkova M., Kozak L., *Mutation spectrum and phenylalanine hydroxylase RFLP/VNTR background in 44 Romanian phenylketonuric alleles*. Human Mutation., 1998; Vol 12, Issue 5, pages 314–319.
18. Scriver C. R., Hurtubise M., Konecki D., Phommarinh M., *PAHdb 2003: What a Locus-Specific Knowledge-base Can Do*. HUMAN MUTATION, 2003; 21:333-344.
19. Smagulova F. O., Morozov I. V., *Molecular Genetics of Phenylketonuria in Inhabitants of Novosibirsk Region*. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 2002; Vol. 38, No. 1, p. 40-44.
20. Smith I., Cook B., Beasley M., *Review of neonatal screening programme for phenylketonuria*, 1991; 333–335.
21. Soloviov O. O., Livshits L. A., *Screening for Mutant Variants of Exons 5, 7, and 12 in the Phenylalanine Hydroxylase Gene with the Use of Denaturing Gradient Gel-Electrophoresis*, Cytology and Genetics, 2009; Vol. 43, No. 4, pp. 237–240.
22. Steinfeld R., Kohlschutter A., Ullrich K., *Efficiency of long-term tetrahydrobiopterin monotherapy in phenylketonuria*. J. Inherit. Metab. Dis., 2004; 27: 449-453.
23. Stojiljkovic M., Jovanovic J., Djordjevic M., *Molecular and phenotypic characteristics of patients with phenylketonuria in Serbia and Montenegro*. Clin Genet., 2006; 70(2):151-5.
24. Uşurelu N., *Fenilketonuria consultul medico-genetic, dietoterapia, integrarea socială: Ghid practic – Ch.: Policolor*, 2008; 88 pag
25. Zschocke Johannes, *Phenylketonuria Mutations in Europe*, Hum. Mut., 2003; 21:345-356.

## PARTICULARITĂȚILE DIAGNOSTICE ALE BOLII WILSON ÎN LEGĂTURA CU VÂRSTA, SEXUL ȘI PREZENTAREA CLINICĂ

Natalia Mocanu – cerc. șt.,

CSRGM, IMSP Institutul Mamei și Copilului, Chișinău, Moldova

E-mail: gmocanud@yahoo.com

### Rezumat

Boala Wilson (BW) este o afecțiune genetică, autosomal recesivă, care afectează ficatul, creierul și corneea. **Scopul.** Evaluarea particularităților clinice cu clasificarea fenotipică a bolii și studierea relațiilor între forma clinică a bolii, vârsta și sexul pacienților. **Material și metode:** Noi am analizat 40 de pacienți cu diferite simptome, care reflectă BW. Diagnosticul a fost stabilit la toți pacienții cu afectarea inexplicabilă a ficatului și/sau tulburări neurologice sau neuropsihiatrice, prezența inelului Kayser-Fleischer, nivelul jos a ceruloplasminei serice, creșterea excreției cuprului urinar în 24 de ore. Pacienții au fost clasificați fenotipic și s-a studiat relația între forma clinică a bolii, vârsta și sexul pacienților. **Rezultate:** Schimbările neurologice au fost prezente în 38 (95%) de cazuri. Pacienții cu manifestări hepatice (media 17.3 ani; rata 9-30) au fost mai tineri în comparație cu pacienții cu simptomele neurologice (media 24.6 ani; rata 12-36). Manifestările neurologice au fost asociate cu vârsta mai mare și stabilirea mai îndelungată a diagnosticului. Nu au existat diferențe semnificative privind distribuția pe fenotipuri în raport cu vârsta sau sexul pacienților. **Concluzii:** Prezența manifestărilor hepatice la momentul diagnosticului BW descrește cu vârsta, pe când cea a manifestărilor neurologice crește. Distribuția pe fenotipuri nu este influențată de vârstă sau sex.

**Cuvinte-cheie:** Boala Wilson, forme clinice, vârsta, sex

### Summary: Diagnostic characteristics of Wilson's disease in relation to age, sex, and clinical presentation

Wilson's disease (WD) is a genetic, autosomal recessive disorder, which affects the liver, brain and cornea. **The aim.** To study different clinical presentations, their relation with age and sex. **Material and methods.** We analyzed 40 moldovan patients having diverse disease symptoms reflecting WD with unexplained liver and/or neurological or neuropsychiatric disorder, presenting of Kayser-Fleischer ring, low serum ceruloplasmin level and the amount of copper excreted in the urine. The patients were classified phenotypically and we studied the relation between clinical phenotype, age at diagnosis and sex. **Results:** The neurological changes were presented in 38 (95%) cases of all our patients. Patients with hepatic manifestation (17.6±0.96 years; range 9–30) were younger than patients with neurological symptoms (25.5±1.26 years; range 12–36). **Conclusions:** The presence of hepatic manifestations at the moment of diagnosis of WD decreases with age, while neurological one increases. The distribution on phenotypes was not influenced by age or sex.

**Key words:** Wilson's disease, Wilson's disease clinical phenotypes, age, sex.

### Резюме: Диагностические особенности болезни Вильсона в плане возраста, пола и клинических проявлений

Болезнь Вильсона (БВ) генетическое, аутомно-рецессивное нарушение, повреждающее печень, мозг и роговицу. **Цель.** Исследование различных клинических форм БВ и определение их связи с возрастом и полом. **Материалы и методы.** Мы проанализировали 40 молдавских пациентов с различными симптомами, отражающими БВ с необъяснимой печеночной, неврологической и нейropsychиатрической симптоматикой, присутствием кольца

Кайзера-Флейшера, низким уровнем церулоплазмينا крови и повышением экскреции меди в суточной моче. **Результаты.** Неврологические нарушения присутствовали у 38 (95%) наших пациентов. Пациенты с печеночными проявлениями ( $17.6 \pm 0.96$  years; range 9–30) были моложе пациентов с неврологической симптоматикой ( $25.5 \pm 1.26$  years; range 12–36). **Выводы.** Присутствие печеночных изменений на момент диагностики БВ убывает с возрастом в отличие от неврологической симптоматики, которая с возрастом возрастает. Фенотипическое распределение не зависело от возраста и пола пациентов.

**Ключевые слова:** Болезнь Вильсона, клинические формы, возраст, пол

## Introducere

Boala Wilson (BW; OMIM #277900) este dizordinea autosomal-recesivă progresivă cauzată de dereglările metabolismului cuprului cu frecvență aproximativă de 30 de cazuri la 1 milion de populație [1-4]. Acumularea excesivă a cuprului în diferite organe, în primul rând în ficat, creier, rinichi și, corneea duce la diferite dereglări neurologice și hepatice [5]. Prezentarea clinică este foarte heterogenă. Pacienții prezintă dereglările hepatice, neurologice sau ambele. Sunt 3 tipuri principale a manifestărilor clinice: neurologice, hepatice și mixte. Aceste manifestări pot fi prezente în diferite combinații, ducând la variabilitatea clinică majoră, greșeli de diagnostic [Prashanth et al. 2004]. Vârsta de debut variază de la 2 până la 70 de ani [4,5]. Stabilirea diagnosticului de BW este posibilă în cazul prezenței următoarelor simptome clinice și de laborator: semne tipice hepatice și/sau neurologice, inelul Kayser-Fleischer, concentrația micșorată a ceruloplasminei serice și sporirea excreției urinare a cuprului [4].

În anul 1993 a fost identificată și elucidată structura genei bolii Wilson. Gena responsabilă de această boală este localizată pe cromozomul 13 (13q14.3-q21.1) și se numește ATP7B (ATP7B; OMIM \*606882). Până în prezent au fost stabilite aproximativ 500 de mutații individuale la pacienții cu BW, fenomen care explică heterogenitatea clinică a bolii, dar oricum a fost dificil de elaborat un screening test pentru această maladie. Unele cazuri de BW apar ca urmare a mutației spontane în genă [6,7].

**Scopul.** Evaluarea particularităților clinice cu clasificarea fenotipică a bolii și studierea relațiilor între forma clinică a bolii, vârsta la stabilirea diagnosticului și sexul pacienților.

**Material și metode.** În cadrul studiului au fost investigați cei 40 de pacienți din 39 de familii cu simptome caracteristice BW [8]. Aceștia au fost înregistrați și tratați în Centrul de Sănătate a Reproducerii și Genetică Medicală perioada lungă de timp (medie  $68,9 \pm 5,6$  luni).

Diagnosticul final a fost bazat pe parametrii clinici, biochimici și genetici. Până la testarea genetică criteriile de bază în stabilirea diagnosticului de BW au fost prezența dereglărilor hepatice și/sau neurologice, caracteristice pentru BW, prezența inelului Kayser-Fleischer, concentrația serică micșorată a ceruloplasminei și

excreția majorată a cuprului. Prezența simptomelor neurologice tipice în combinație cu inelul K-F și nivelul jos de ceruloplasmină cu excreția majorată a cuprului în urină au fost criteriile minimale de diagnostic pentru forma neurologică a maladiei. Afectarea ficatului a fost apreciată pe baza evaluării clinice, testelor funcționale hepatice și ultrasonografiei [8,9]. Biopsia ficatului nu a fost efectuată. Dereglarea neuropsihiatrică a fost cercetată pe baza evaluării clinice și rezultatelor rezonanței magnetice nucleare în unele cazuri.

Toți pacienții au fost supuși următoarelor investigații: analiza generală a sângelui, analiza biochimică a sângelui, analiza generală a urinei, concentrația ceruloplasminei serice, nivelul cuprului și zincului în sânge și, nivelul cuprului în urină, consultul oftalmologic pentru depistarea inelului Kayser-Fleischer, USG organelor abdominale și tomografia computerizată, sau rezonanța magnetică nucleară cerebrală. Testele hepatice funcționale și alte date rutinare de laborator au fost obținute folosind metodele standard.

Acordul informat a fost obținut de la toți pacienții și studiul a fost vizat de Comitetul Etic.

Conform formei clinice și investigațiilor de laborator toți pacienții au fost clasificați în 3 grupe principale: grupa hepatică (H), pacienții cu simptome exclusiv hepatice la debutul maladiei și, absența simptomelor neurologice confirmate prin examinarea minuțioasă neurologică  $n=2$  (5%); grupa neurologică (N), pacienții cu simptomele neurologice și lipsa simptomelor hepatice la debutul maladiei  $n=19$  ( $47,5 \pm 7,89\%$ ); și grupa mixtă (HN), pacienții cu prezentarea combinată definită ca apariția manifestărilor neurologice la pacienți cu afectarea ficatului  $n=19$  ( $47,5 \pm 7,89\%$ ).

**Rezultate.** Noi am analizat distribuția pacienților cu BW în acord cu vârsta de debut, grupa etnică, sexul, manifestările clinice, inclusiv, prezența inelului Kayser-Fleischer. Patruzeci de pacienți cu BW au fost diagnosticați între anii 2004-2014 (20 de bărbați, 20 de femei). Vârsta medie de diagnosticare a bolii a fost  $20,0 \pm 1,25$  ani, dar diapazonul a fost larg (9-38 ani). Patruzeci procente de pacienți au fost diagnosticați timp de șase luni de la adresarea primară după ajutorul medical; 38% timp de 2-3 ani. La alți pacienți (22%) stabilirea diagnosticului a fost până la 9 ani. În grupa de studii 33 (82,5%) pacienți după

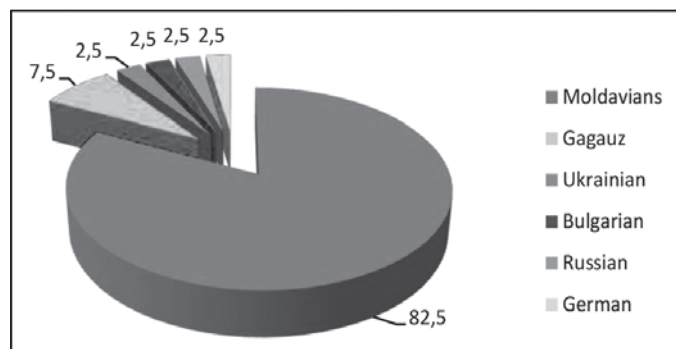


Fig. 1. Structura lotului de studii după etnicitate (%)

naționalitatea au fost moldoveni, 3 (7,5%) gagauji, 1 (2,5%) ucraineni, 1 (2,5%) pacient a fost bulgar, 1 (2,5%) rus și 1 (2,5%) german (fig. 1).

Cercetările noastre au arătat că din toți pacienții studiați afectarea ficatului ca simptom clinic inițial a fost prezent la 21 (52,5±7,89%) de pacienți, 19 (47,5±7,89%) pacienți au avut simptomele neurologice la debutul bolii ( $p>0,05$ ). Dar afectarea ficatului a fost prezentă la 29 (72,5±7,06%) de pacienți și includea ciroză ( $n=6$ ), steatoză ( $n=2$ ), hepatomegalie ( $n=19$ ), insuficiență hepatică ( $n=2$ ), alte simptome au fost fagigabilitatea, durerea abdominală, edem, ascită și icter. Hepatomegalia a fost prezentă la 19 (47,5±7,89%) pacienți, 11 din ei au avut manifestările hepatice și neurologice (grupa mixtă H+N), în 7 cazuri neurologice (grupa N) și 1 formă hepatică (grupa H). Splenomegalia a fost comună pentru grupele H+N și N la 7 (17,5%) pacienți și 6 (15%) pacienți respectiv, (fig. 2).

Schimbările neurologice au fost depistate în 38 (95%) de cazuri și, au fost prezente practic, la toți pacienții noștri, în afară de 2 pacienți cu simptomatologia hepatică, care nu au prezentat simptome neurologice. Funcția neurologică a fost apreciată ca severă în 17

(42,5±7,82%) și moderată în 19 (47,5±7,89%) cazuri ( $p>0,05$ ). Perioada simptomatică inițială a fost caracterizată prin următoarele simptome clinice: tremor  $n = 29$  (72,5±7,06%), disartria  $n = 27$  (67,5±7,41%), distonia  $n = 23$  (57,5±7,82%), mai puțin frecvent parkinsonism  $n = 10$  (25,0±6,85%). Alte simptome neurologice așa ca Coreea, atetozis, mioclonus, convulsii, ataxia, semne piramidale, hipersalivația și diferite schimbări oculare au fost depistate pe parcursul bolii.

Studiile noastre au demonstrat că la pacienții cu predominarea simptomelor hepatice (grupa H, grupa H+N) diagnosticul a fost stabilit mai precoce (17,6±0,96 ani), în comparație cu grupul neurologic (N grup) cu manifestări neurologice (25,5±1,26 ani) (fig. 3).

Independent de grupa bolii schimbările psihice importante erau instabilitatea emoțională la 31 (77,5±6,60%) de pacienți, depresia, care a fost detectată la 21 (52,5±7,89%) de pacienți, agresia în 9 (22,5±6,60%) cazuri. Manifestările psihice au fost mai caracteristice pentru grupul neurologic și mai puțin în grupul hepatic.

Manifestările renale au fost detectate la 2 pacienți (nefrolitiază la un pacient și nefropatie la un pacient),

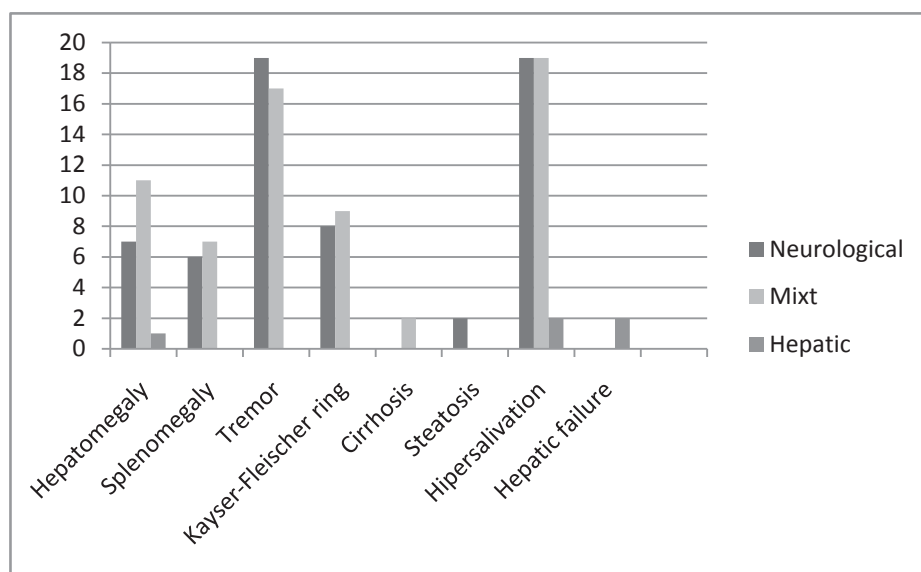


Fig. 2. Prezentarea clinică în diferite grupe a BW

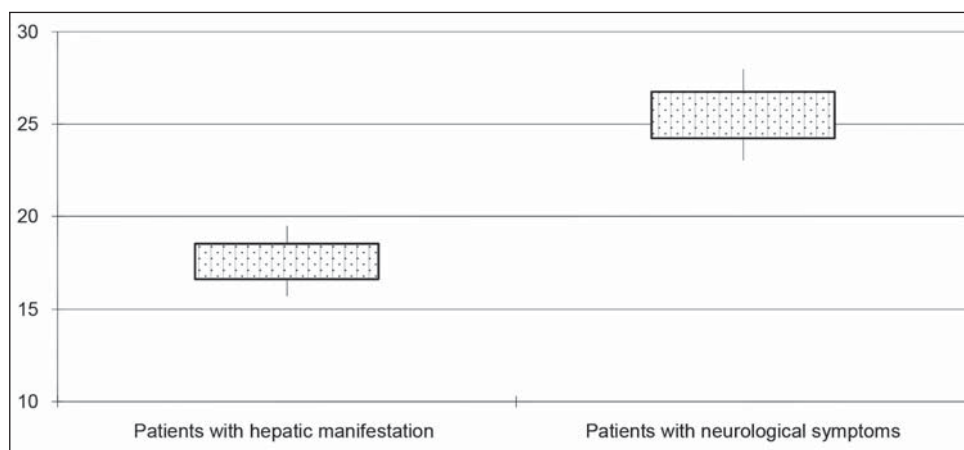


Fig. 3. Diferența medie în vârsta de debut în dependență de manifestările hepatice sau neurologice

infecția recurentă a tractului urinar a fost depistată la 4 pacienți. Alte manifestări extrahepatice au fost detectate la 17 pacienți: dereglări ginecologice la 7 pacienți, dereglările funcției vezicii biliare la 3 pacienți și artralgiile la 7 pacienți.

**Discuții:** Polimorfismul formelor clinice și decurgerea asimptomatică a maladiei duce la dificultățile în stabilirea diagnosticului și ca rezultat la corecția medicamentoasă tardivă. Dar pronosticul maladiei depinde foarte mult de aplicarea tratamentului adecvat la timp. Luând în considerații cele expuse, este necesar să ne bazăm în primul rând pe diagnosticul clinic stabilit la timp. Una din caracteristicile grupului nostru de studii a fost vârsta înaltă de stabilirea diagnosticului. Studiile precedente au raportat stabilirea diagnosticului la 12,2 ani la pacienții din Japonia, 7,2 ani din India, 11,7 din Iran, 10 ani la pacienții din Egipt [10-14]. La pacienții noștri vârsta medie de diagnosticare a bolii a fost  $20,0 \pm 1,25$  ani, dar diapazonul a fost larg (9-38 ani).

Manifestările clinice ale BW sunt foarte variabile și stabilirea diagnosticului în copilărie este foarte dificilă [15,16]. Stabilirea diagnosticului corect și la timp reprezintă problema principală pentru clinicieni. Datele noastre arată că diagnosticul tardiv este des asociat cu forma neurologică a bolii (median  $25,5 \pm 1,26$  years; range 12–36), schimbările neurologice au fost prezente la 38 (95,0%) din pacienți, indicând că diagnosticul și tratamentul precoce îmbunătățesc evident prognosticul.

Studiile precedente au arătat că vârsta medie a stabilirii simptomelor neurologice la pacienți variază de la 15-21 de ani [17-20]. Manifestările neurologice în stadiul inițial a bolii au fost raportate în aproximativ 18–68% de cazuri [18-20]. Vârsta de debut la pacienții din Dania cu forma neurologică a bolii a fost mai înaltă (în mediu 20 de ani; 12–38), decât la pacienți cu forma hepatică (13 years; 7–39) [21]. Rezultatele noastre pot fi explicate prin specificul cen-

trului nostru. Diagnosticul la mai mulți pacienți a fost stabilit pentru prima dată la noi în Centru și, pacienții au fost consultați de medicul neurolog și genetician. Dar pacienții continue să sufere de la întârzierea în stabilirea diagnosticului [2]. Deaceea, măsuri rapide și financiar disponibile sunt necesare pentru pacienții din R. Moldova. Noi putem să recomandăm la toți pacienții tineri cu afectarea neclară a ficatului consultul genetic cu următoarele investigații: 1. testele funcționale hepatice; 2. concentrația serică a ceruloplasminei și excreția urinară a cuprului; 3. testarea genetică. Distribuția fenotipurilor clinice nu a fost influențată de vârsta sau sexul pacientului, cum a fost arătat în rezultate.

**Concluzii:** Prezența manifestărilor hepatice la momentul diagnosticului BW descrește cu vârsta, pe când cea a manifestărilor neurologice crește. Distribuția pe fenotipuri nu este influențată de vârsta sau sex.

#### Bibliografie

1. Roberts E.A., Schilsky M.L., *Diagnosis and treatment of Wilson disease*: Hepatology, 2008; 47(b):2089-2111.
2. Medici V., Rossaro L., Stumliolo GC, *Wilson disease-a practical approach to diagnosis, treatment and follow-up*, 2007; 39(7):601-609.
3. Ala A., Walker A.P., Ashkan K., Dooley J.S., Schilsky M.L., *Wilson's disease*. 2007; 369(9559):397-408.
4. Gitlin J.D., *Wilson disease*. Gastroenterology, 2003; 125(b):1868-1877.
5. Ferenci P., *Pathophysiology and clinical features of Wilson disease*. Metabolic brain disease, 2004; 19(3-4):229-239.
6. Radan Bruha, Zdenek Marecek, Lenka Pospisilova, et al., *Long-term follow-up of Wilson Disease: natural history, treatment, mutations analysis and phenotypic correlation*. Liver International, 2010; 10:83-91.
7. Tanzi R.E., Petrukhin K., Chernov I., et al., *The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene*. Nat. Genet., 1993; 5: 344-50.



8. Peter Ferenci et al., *Diagnosis and phenotypic classification of Wilson Disease*. Liver International, 2003; 23: 139-142.
9. Peter Ferenci, *Pathophysiology and Clinical Features of Wilson Disease*. Metabolic Brain Disease, 2004; 19: 3/4
10. Giacchino R., Marazzi M.G., Barabino A., Fasce L., Ciravegna B., Famularo L., Boni L., Callea F., *Syndromic variability of Wilson's disease in children. Clinical study of 44 cases*. Ital J Gastroenterol Hepatol., 1997; 29:155-161.
11. Amira M., Sano I.Z., *Genetic studies of Wilson's disease in Japan*. Birth Defects, 1968; 4:54-9.
12. AsadiPooya AA, Eslami NS, Haghighat M., *Wilson Disease in Southern Iran*. Turk J Gastroenterol., 2005; 16:71-74.
13. Kalra V., Khurana D., Mittal R.: *Wilson's disease-early onset and lessons from a pediatric cohort in India*. Indian Pediatr 2000, 37:595-601.
14. Merle U. et al., *Clinical presentation, diagnosis and long-term outcome of Wilson's disease: a cohort study*. Gut., 2007; 56: 115-120.
15. Riordan S.M., Williams R., *The Wilson's disease gene and phenotypic diversity*. Journal of hepatology, 2001; 34(1):165-171.
16. Schilsky M.L., *Wilson disease: current status and the future*. Biochimie, 2009; 91(10):1278-1281.
17. Walshe, J.M. and M. Yealland., *Wilson's disease: the problem of delayed diagnosis*. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry, 1992; 55:692-696.
18. Giagheddu, A. et al., *Epidemiologic study of hepatolenticular degeneration (Wilson's disease) in Sardinia (1902-1983)*. Acta Neurol. Scand., 1985; 72: 43-55.
19. Oder, W. et al., *Neurological and neuropsychiatric spectrum of Wilson's disease: a prospective study of 45 cases*. J. Neurol., 1991; 238:281-287.
20. Stremmel. W. et al., *Wilson disease: clinical presentation, treatment, and survival*. Ann. Intern. Med., 1991; 115:720-726.
21. Lisbeth Birk Moller et al., *Clinical presentation and mutations in Danish patients with Wilson disease*. J. Hum. Genet., 2011; 19:935-941.
22. Matthew T. Lorincz., *Neurologic Wilson's disease*. Ann. N. Y. Acad. Sci., 2010; 1184: 173-187.